

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

11 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 841 900

21 N° d'enregistrement national : 02 08571

51 Int Cl⁷ : C 07 C 251/58, C 07 C 49/217, A 61 K 31/12, 31/055,
A 61 P 9/10

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 08.07.02.

30 Priorité :

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 09.01.04 Bulletin 04/02.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

71 Demandeur(s) : GENFIT S.A. — FR.

72 Inventeur(s) : NAJIB JAMILA et CAUMONT BER-
TRAND KARINE.

73 Titulaire(s) :

74 Mandataire(s) : CABINET BECKER ET ASSOCIES.

54 NOUVEAUX DERIVES DE 1,3-DIPHENYLPROP-2-EN-1-ONE SUBSTITUES, PREPARATION ET UTILISATIONS.

57 La présente invention concerne de nouveaux dérivés
de 1,3-diphénylprop-2-en-1-one substitués, des composi-
tions pharmaceutiques les comprenant, leurs applications
en thérapeutique, notamment pour le traitement de l'isché-
mie cérébrale. Elle a également trait à un procédé de prépa-
ration de ces dérivés.

FR 2 841 900 - A1

BEST AVAILABLE COPY



premier événement, qui survient dans les premières heures, est une libération massive de glutamate qui aboutit à une dépolarisation neuronale ainsi qu'à un œdème cellulaire. L'entrée de calcium dans la cellule induit des dégâts mitochondriaux favorisant la libération de radicaux libres ainsi que l'induction d'enzymes qui provoquent la dégradation membranaire des neurones. L'entrée de calcium et la production de radicaux libres activent à leur tour certains facteurs de transcription, comme NF- κ B. Cette activation induit des processus inflammatoires comme l'induction de protéines d'adhésion au niveau endothélial, l'infiltration du foyer ischémique par les polynucléaires neutrophiles, l'activation microgliale, l'induction d'enzymes comme l'oxyde nitrique (NO) synthase de type II ou la cyclooxygenase de type II. Ces processus inflammatoires conduisent à la libération de NO ou de prostanoïdes qui sont toxiques pour la cellule. L'ensemble de ces processus aboutit à un phénomène d'apoptose provoquant des lésions irréversibles (Dirnagl, Iadecola et al. 1999).

Le concept de neuroprotection prophylactique s'appuie sur des bases expérimentales mettant en évidence une résistance vis-à-vis de l'ischémie dans des modèles animaux. En effet, différentes procédures appliquées préalablement à la réalisation d'une ischémie cérébrale expérimentale permettent de rendre celle-ci moins sévère. Différents stimuli permettent d'induire une résistance à l'ischémie cérébrale : le préconditionnement (ischémie brève précédant une ischémie prolongée) ; un stress thermique ; l'administration d'une faible dose de lipopolysaccharide bactérien (Bordet, Deplanque et al. 2000).

Ces stimuli induisent des mécanismes de résistance qui activent des signaux déclenchant les mécanismes de protection. Différents mécanismes de déclenchement ont été mis en évidence : cytokines, voies de l'inflammation, radicaux libres, NO, canaux potassique ATP dépendant, adénosine. Le délai observé entre le déclenchement des événements précoces et la résistance à l'ischémie provient de la nécessité d'une synthèse protéique. Différents types de protéines ont été décrits comme induisant la résistance à l'ischémie : les protéines du choc thermique, les enzymes anti-oxydantes et les protéines anti-apoptotiques (Nandagopal, Dawson et al. 2001).

Les gènes cibles des PPARs contrôlent le métabolisme des lipides et des glucides. Cependant, des découvertes récentes suggèrent que les PPARs participent à d'autres processus biologiques. L'activation des PPARs par leurs ligands induit le changement de l'activité transcriptionnelle de gènes qui modulent le processus inflammatoire, les enzymes antioxydantes, l'angiogénèse, la prolifération et la différenciation cellulaire, l'apoptose, les activités des iNOS, MMPases et TIMPs (Smith, Dipreta et al. 2001; Clark 2002). L'activation de PPAR α et γ est par exemple responsable de l'arrêt de la prolifération des kératinocytes épidermiques et favorise leur différenciation (Ellis, Varani et al. 2000; Komuves, Hanley et al. 2000).

Les radicaux libres interviennent dans un spectre très large de pathologies comme les allergies, l'initiation et la promotion cancéreuse, les pathologies cardiovasculaires (athérosclérose, ischémie), les désordres génétiques et métaboliques (diabètes), les maladies infectieuses et dégénératives (Alzheimer, Parkinson, Prion, etc.) ainsi que les problèmes ophtalmiques (Mates, Perez-Gomez et al. 1999).

Les espèces réactives oxygénées (ROS) sont produites pendant le fonctionnement normal de la cellule. Les ROS sont constituées de radicaux hydroxyle (OH), de l'anion superoxyde (O_2^-), du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) et de l'oxyde nitrique (NO). Ces espèces sont très labiles et, du fait de leur grande réactivité chimique, elles constituent un danger pour les fonctions biologiques des cellules. Elles provoquent des réactions de peroxydation lipidique, l'oxydation de certains enzymes et des oxydations très importantes des protéines qui mènent à leur dégradation. La protection vis-à-vis de la peroxydation lipidique est un processus essentiel chez les organismes aérobies, car les produits de peroxydation peuvent causer des dommages à l'ADN. Ainsi un dérèglement ou une modification de l'équilibre entre la production, la prise en charge et l'élimination des espèces radicalaires par les défenses antioxydantes naturelles conduisent à la mise en place de processus délétères pour la cellule ou l'organisme.

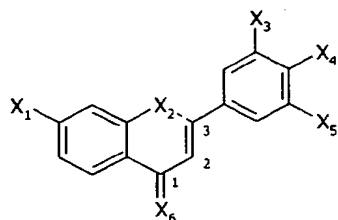
Les inventeurs ont également mis en évidence que les composés selon l'invention ont à la fois des propriétés d'activateurs PPAR, d'antioxydants et d'antiinflammatoires et, à ces titres, les composés présentent un haut potentiel thérapeutique ou prophylactique des accidents ischémiques cérébraux.

La présente invention concerne ainsi de nouveaux dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués, des compositions pharmaceutiques les comprenant, leurs applications en thérapeutique, notamment pour le traitement de l'ischémie cérébrale. Elle a également trait à un procédé de préparation de ces dérivés.

La présente invention a donc pour but de proposer de nouveaux dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués présentant une formule améliorée et une efficacité thérapeutique satisfaisante.

La présente invention a également pour but de proposer des procédés de préparation de ces nouveaux dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués.

Ces buts et d'autres sont atteints par la présente invention qui a notamment pour objet des dérivés de 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substitués de formule (I) suivante :



(I)

dans laquelle :

X1 représente un halogène ou un groupement -R1 ou un groupement répondant à la formule suivante : -G1-R1,

étant lié directement au cycle ou étant associé à un groupement G selon la formule -GR,

5 les substituants du groupe 1 sont choisis parmi les groupements carboxy de formule : -COOR₆ et les groupements carbamoyle de formule : -CONR₆R₇,

les substituants du groupe 2 sont choisis parmi l'acide sulfonique (-SO₃H) et les groupements sulfonamide de formule : -SO₂NR₆R₇

10 avec R₆ et R₇, identiques ou différents, représentant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle éventuellement substitué par au moins un groupe de type 1 ou 2,

leurs isomères optiques et géométriques, leurs racémates, leurs tautomères, leurs sels, leurs hydrates et leurs mélanges,

15

à l'exclusion des composés de formule (I) dans laquelle

20 - X₁, X₂, X₃ et X₅ représentent simultanément un atome d'hydrogène, X₆ représente un atome d'oxygène et X₄ représente un groupement de formule -O-CR₈R₉-COOR₁₀, avec R₈ et R₉, identiques ou différents, représentant un radical alkyle de C1-C2, et R₁₀ représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7, et

25 - X₂, X₃ et X₅ représentent simultanément un atome d'hydrogène, X₁ représente un atome d'halogène ou un radical R1 ou -G1R1, où R1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G1 représente un atome d'oxygène, X₆ représente un atome d'oxygène et X₄ représente un groupement de formule -O-CR₁₁R₁₂-COOR₁₀, avec R₁₁ et R₁₂, identiques ou différents, représentant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C2, et R₁₀ représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7.

30 La présente invention inclut également les prodrogues des composés de formule (I), qui, après administration chez un sujet, vont se transformer en composés de formule (I) et/ou les métabolites des composés de formule (I) qui

thionitroso ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy ou un groupement thiol ou un groupement alkylthio, G4 et R4 étant tels que définis précédemment.

5 Un autre objet de l'invention concerne des dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X1 est un groupement -G1-R1 dans lequel R1 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G1 et le substituant du groupe 1 étant tels que définis précédemment.

10 Un autre objet de l'invention concerne des dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X4 est un groupement -G4-R4 où R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G4 et le substituant du groupe 1 étant tels que définis précédemment.

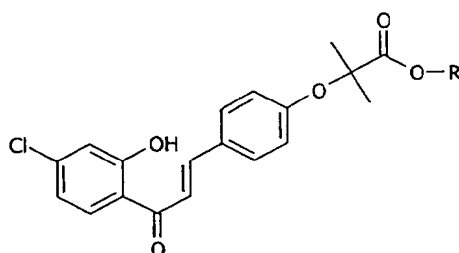
15 Un autre objet de l'invention concerne des dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X4 est un groupement -G4-R4, R4 est tel que défini précédemment et X3 ou X5 représente respectivement R3 ou G3R3, d'une part, et R5 ou G5R5, d'autre part, avec R3 ou R5 qui représente un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe
20 1 étant tel que défini précédemment.

 Un autre objet de l'invention concerne des dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X1 est un groupement -G1-R1 dans lequel G1 est un atome d'oxygène et R1 est un groupement alkyle portant un
25 substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini précédemment.

 Un autre objet de l'invention concerne des dérivés de la formule (I) tels que décrits précédemment, caractérisés en ce que X4 est un groupement -G4-R4
30 dans lequel G4 est un atome d'oxygène et R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini précédemment.

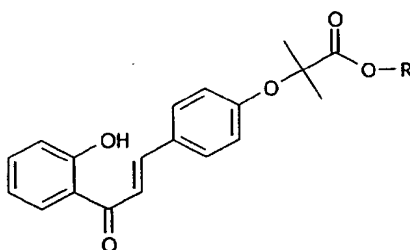
Selon un mode particulier de l'invention, les composés préférés sont indiqués ci-dessous avec les formules qui leur sont associées :

- 5 le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]- 3-[4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]- 3-[4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-1) :



R = -H, -CH(CH₃)₂

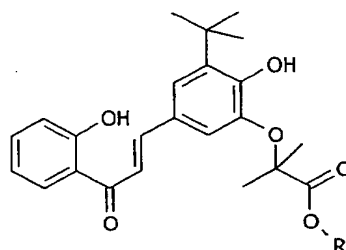
- le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-2):



R = -H, -CH(CH₃)₂

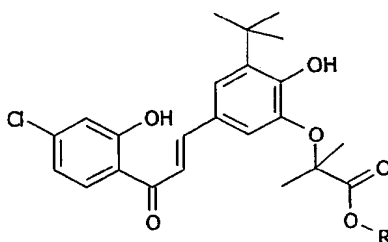
- 20 le 1-[2-méthylcarbonyloxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-méthylcarbonyloxyphényl]-3-[4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-3) :

isopropoxyloxycarbonyldiméthylméthoxy-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-èn-1-one (composé-6):



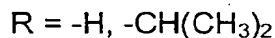
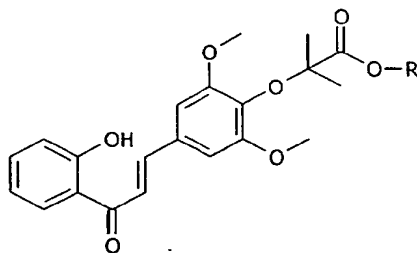
R = -H, -CH(CH₃)₂

le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-carboxydiméthylméthoxy-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3-isopropoxyloxycarbonyldiméthylméthoxy-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-èn-1-one (composé-7) :

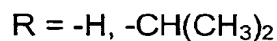
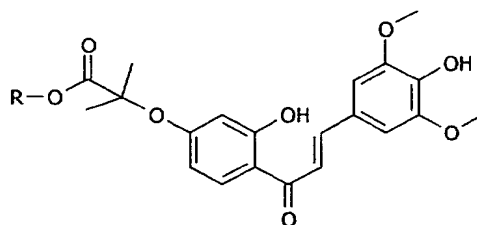


R = -H, -CH(CH₃)₂

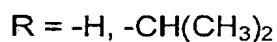
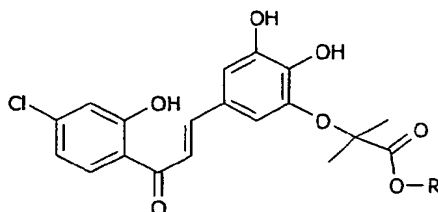
le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyl-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-isopropoxyloxycarbonyldiméthylméthyl-4-hydroxy-5-*tert*butylphényl]prop-2-èn-1-one (composé-8) :



le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-isopropoxy-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-12):

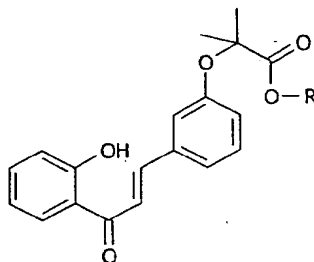


le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,4-dihydroxy-5-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,4-dihydroxy-5-isopropoxy-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-2-propen-1-one (composé-13):



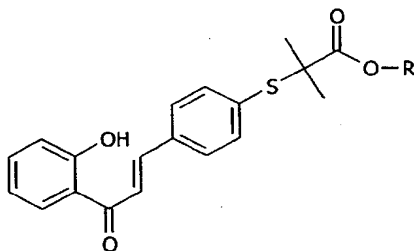
le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-hydroxy-4-isopropoxy-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-14):

et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one
 et le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-isopropyloxycarbonyldiméthylméthyloxyphényl]
 prop-2-èn-1-one (composé-17) :



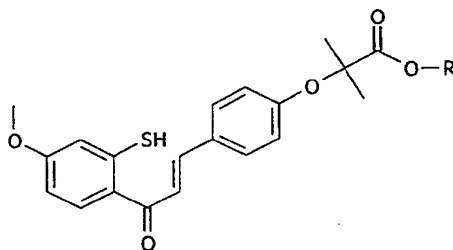
R = -H, -CH(CH₃)₂

le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthylthiophényl]prop-2-èn-1-one et
 le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-isopropyloxycarbonyldiméthylméthylthiophényl]prop-2-
 èn-1-one (composé-18) :

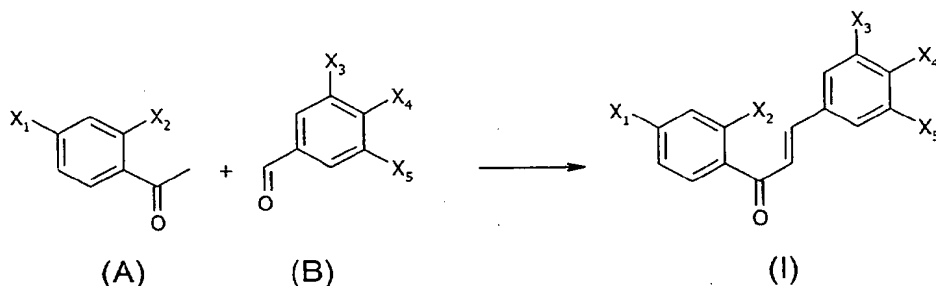


R = -H, -CH(CH₃)₂

le 1-[2-mercapto-4-méthoxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-
 2-èn-1-one et le 1-[2-mercapto-4-méthoxyphényl]-3-[4-
 isopropyloxycarbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one (composé-19) :



La présente invention a également pour objet un procédé de préparation de
 composés de formule (I).



5 La synthèse en milieu basique peut être réalisée de la façon suivante :

La cétone (composé (A)) à 1 équivalent-molaire et l'aldéhyde (composé (B)) à 1 équivalent-molaire sont solubilisés dans une solution hydroalcoolique d'hydroxyde de sodium à 20 équivalents-molaire. L'ensemble est agité pendant environ 18 heures à température ambiante (entre 18 et 25°C). Le milieu est ensuite acidifié (pour atteindre en particulier un pH d'environ 2) notamment avec de l'acide chlorhydrique.

La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée attendue peut être obtenue par précipitation ou extraction solide/liquide après évaporation du milieu réactionnel. Elle peut être ensuite purifiée par chromatographie sur gel de silice ou par recristallisation.

La synthèse en milieu acide peut être réalisée de la façon suivante :

20 La cétone (composé (A)) à 1 équivalent-molaire et l'aldéhyde (composé (B)) à 1 équivalent-molaire sont solubilisés dans une solution d'éthanol saturée d'acide chlorhydrique gazeux. L'ensemble est agité à température ambiante pendant environ 6 heures, le solvant est éliminé, notamment par évaporation sous pression réduite. La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one substituée est purifiée, notamment par chromatographie sur gel de silice.

25 Un autre objet de la présente invention concerne toute composition pharmaceutique comprenant dans un support acceptable sur le plan pharmaceutique au moins un composé de formule (I) tel que décrit ci-dessus.

De préférence, la méthode de traitement des pathologies vasculaires cérébrales et plus particulièrement de l'ischémie cérébrale, comprend l'administration à un sujet, notamment humain, d'une dose efficace d'un composé de formule (I) ou d'une composition pharmaceutique tels que définis ci-avant, à l'exclusion des composés de formule générale (I) dans laquelle :

- X_1 , X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_8R_9-COOR_{10}$, avec R_8 et R_9 , identiques ou différents, représentent un radical alkyle de C1-C2, et R_6 représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7, et

- X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_1 représente un atome d'halogène ou un radical R_1 ou $-G_1R_1$, où R_1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G_1 représente un atome d'oxygène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-CR_{11}R_{12}-COOR_{10}$, avec R_{11} et R_{12} , identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C2, et R_{10} représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7.

Les compositions pharmaceutiques selon l'invention comprennent avantageusement un ou plusieurs excipients ou véhicules, acceptables sur le plan pharmaceutique. On peut citer par exemple des solutions salines, physiologiques, isotoniques, tamponnées, etc., compatibles avec un usage pharmaceutique et connues de l'homme du métier. Les compositions peuvent contenir un ou plusieurs agents ou véhicules choisis parmi les dispersants, solubilisants, stabilisants, conservateurs, etc. Des agents ou véhicules utilisables dans des formulations (liquides et/ou injectables et/ou solides) sont notamment la méthylcellulose, l'hydroxyméthylcellulose, la carboxyméthylcellulose, le polysorbate 80, le mannitol, la gélatine, le lactose, des huiles végétales, l'acacia, etc.. Les compositions peuvent être formulées sous forme de suspension injectable, de gels, huiles, comprimés, suppositoires, poudres, gélules, capsules, etc., éventuellement au moyen de formes galéniques ou de dispositifs assurant une libération prolongée et/ou retardée. Pour ce type de formulation, on utilise avantageusement un agent tel que la cellulose, des carbonates ou des amidons.

seul, cette vitesse est diminuée de 80% (0,17 nmol/min/mg de LDL) avec le composé-2 à 10^{-3} M et de 20% (0,68 nmol/min/mg de LDL) à 10^{-4} M.

La Figure 1-c représente la quantité maximum de diènes conjugués formée au cours du temps. L'incubation des LDL avec l'AAPH entraîne la formation 180 nmol/mg de LDL de diènes conjugués, l'incubation avec le composé-2 à 10^{-3} M diminue de 33% la formation de diènes conjugués (120 nmol/mg de LDL).

Figure 2 :Evaluation des propriétés antioxydantes du composé-5 sur l'oxydation des LDL par le dihydrochloride d'azobis (2-amidinopropane) (AAPH)

Sur la figure 2-a sont représentés les résultats de l'expérience mesurant la formation de diènes conjugués en fonction du temps. On peut observer que l'incubation des LDL avec le composé-5, à des concentrations de 10^{-4} M, 10^{-5} M et 10^{-6} M retarde la formation de diènes conjugués. La Lag-Phase est de 134,1 minutes pour l'AAPH seul, alors que le délai d'apparition des diènes conjugués dépasse les 480 minutes (de la mesure expérimentale), lorsque les LDL sont incubés avec le composé-5 à 10^{-4} M. L'incubation avec le composé-5 à 10^{-5} M décale la Lag-Phase à 327,1 minutes et à 10^{-6} M cette valeur atteint 193,5 minutes. Ce retard de formation de diènes conjugués est caractéristique de produits antioxydants.

La figure 2-b représente la vitesse de formation des diènes en fonction des différents traitements. L'incubation du composé-5 avec LDL en présence de AAPH ralentit la vitesse de formation des diènes conjugués. La vitesse de formation des diènes conjugués est de 1,22 nmol/min/mg de LDL avec l'AAPH seul, cette vitesse est non déterminée (non mesurable car trop faible) avec le composé-5 à 10^{-4} M, elle est diminuée de 53% (0,58 nmol/min/mg de LDL) avec le composé-5 à 10^{-5} M et elle est réduite de 8% avec le composé-5 à 10^{-6} M (1,12 nmol/min/mg de LDL).

La Figure 2-c représente la quantité maximum de diènes conjugués formée au cours du temps. L'incubation des LDL avec l'AAPH entraîne la formation de 555 nmol/mg de LDL de diènes conjugués, l'incubation avec le composé-5 à 10^{-4} M

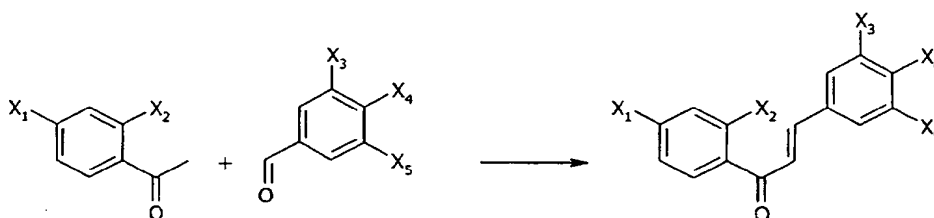
Les cellules RK13 sont incubées avec différents composés aux concentrations suivantes 10, 30 et 100 μM , pendant 24h. Les résultats sont représentés par le facteur d'induction (signal luminescent par rapport aux cellules non traitées) en fonction des différents traitements. Plus le facteur d'induction est élevé meilleure est la propriété d'agoniste pour PPAR α . Les résultats montrent que le composé-1 permet l'induction d'un facteur 30 aux concentrations utilisées, le composé-2 a un facteur d'induction maximal de 60 à 100 μM de 22 à 30 μM et de 4 à 10 μM . Le composé-10 active le système avec un facteur d'induction de 10 pour les concentrations 10 et 30 μM . Le composé-11 possède un facteur d'induction de 10 pour la plus forte concentration 100 μM , de 5 à 30 μM et de 3 à 10 μM . Le composé-15 permet l'activation du système avec un facteur de 37 à 100 μM , 50 à 30 μM et 35 à 10 μM . Le composé 17 à un facteur d'induction de 28 à 100 μM mais à 30 μM ce dernier est de 5 et à 10 μM il atteint 2.

Ces résultats montrent que les composés selon l'invention testés possèdent la propriété de ligand vis-à-vis de PPAR α et permettent aussi son activation au niveau transcriptionnel.

D'autres aspects et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

EXEMPLES

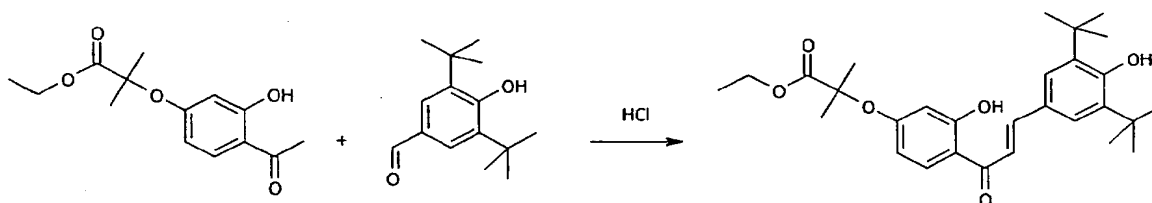
EXEMPLE 1 : Synthèse des composés selon l'invention



RMN ^1H CDCl_3 δppm : 1.21 (d, 6H, $J = 6.09\text{Hz}$), 1.65 (s, 6 H), 5.10 (m, 1H), 6.86 (d, $J = 8.65\text{Hz}$, 2H), 6.95 (m, 1H), 7.02 (dd, $J=8.65\text{Hz}$, $J = 1.53\text{Hz}$, 1H), 7.48 (m, 1H), 7.54 (d, $J=15.25\text{Hz}$, 1H), 7.57 (d, $J=8.65\text{Hz}$), 7.87 (d, $J=15.25\text{Hz}$, 1H), 7.93 (d, $J = 8.40\text{ Hz}$, 1 H), 12.94 (signal échangeable D_2O , 1H)

5

Synthèse en milieu acide :



10 1-[2-hydroxy-4-éthoxycarbonyldiméthylméthoxyphényl]-3-[3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one :

La cétone (1 éq) et l'aldéhyde (1 éq) sont solubilisés dans une solution d'éthanol saturée d'acide chlorhydrique gazeux. L'ensemble est agité à température ambiante pendant 6h puis le solvant est éliminé par évaporation sous pression réduite. La 1,3-diphénylprop-2-èn-1-one est purifiée par chromatographie sur gel de silice.

15

RMN ^1H CDCl_3 δppm : 1.26 (t, $J = 7.11$, Hz 3 H), 1.45 (s, 18H), 1.7 (s, 6H), 4.25 (q, $J = 7.11\text{ Hz}$), 5.62 (signal 1H), 6.33 (d, $J = 2.37$, 1H), 6.42 (dd, $J = 2.37$ et 8.88 Hz, 1H), 7.40 (d, $J = 15.4\text{ Hz}$, 1H), 7.50 (s, 2H), 7.82 (d, $J = 8.88\text{ Hz}$, 1H), 7.88 (d, $J = 15.4\text{ Hz}$, 1H).

20

Bibliographie : Adams *et al*, J Org Chem, 1967, 3992-3998

Préparation des matières premières spécifiques :

25

1-Cétones :

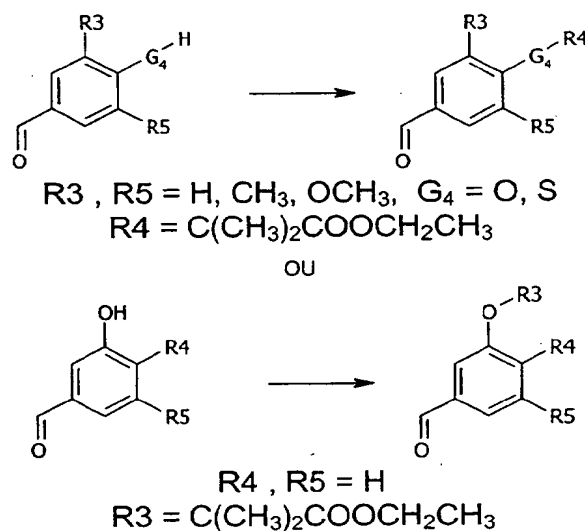
4'-chloro-2'-hydroxyacétophénone :

sont ajoutés. L'ensemble est maintenu 24 heures sous vive agitation à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. Le milieu réactionnel est ramené à température ambiante, les sels sont éliminés par filtration. La 2'-Hydroxy-4'-(éthoxycarbonyldiméthylméthoxy)acétophénone pure est obtenue par chromatographie sur gel de silice.

RMN ^1H CDCl_3 δppm : 1.25 (t, $J = 7.17$ Hz, 3H), 1.67 (s, 6H), 2.56 (s, 3H), 4.24 (q, $J = 7.17$, 2H), 6.27 (d, $J = 2.55$ Hz, 1H), 6.37 (dd, $J = 2.55$ Hz, $J = 8.72$ Hz, 1H), 7.62 (d, $J = 8.72$, 1H), 12,6 (signal, 1H).

Bibliographie : Brevet US n° 3,629,290 (1970), Fisons Pharmaceutical

2-Aldéhydes :



L'aldéhyde est solubilisé dans de l'acétone anhydre. Le carbonate de potassium est ajouté (2 éq) puis le 2-bromo-2-méthylpropanoate d'éthyle (2 éq). Le milieu réactionnel est maintenu 18 heures sous agitation à reflux. L'avancement de la réaction est suivi par chromatographie sur couche mince. Une fois la réaction terminée, le milieu est ramené à température ambiante, les sels sont éliminés par

Les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

5 L'oxydation des LDL est une modification importante et joue un rôle prépondérant dans la mise en place et le développement de l'athérosclérose (Jurgens, Hoff et al. 1987). Le protocole suivant permet la mise en évidence des propriétés antioxydantes des composés. Sauf mention différente, les réactifs proviennent de chez Sigma (St Quentin, France).

10 Les LDL sont préparés suivant la méthode décrite par Lebeau et al. (Lebeau, Furman et al. 2000).

Les solutions de composés à tester sont préparées à 10^{-2} M dans de l'éthanol et diluées dans du PBS pour avoir des concentrations finales allant de 0,1 à 100 μ M pour une concentration totale d'éthanol de 1% (v/v).

15 Avant l'oxydation, l'EDTA est retiré de la préparation de LDL par dialyse. L'oxydation a ensuite lieu à 30°C en ajoutant 100 μ l d'une solution à 16,6 μ M de CuSO_4 ou de 2 mM de AAPH à 800 μ L de LDL (125 μ g de protéines/ml) et 100 μ l d'une solution du composé à tester. La formation de diènes, l'espèce à observer, se mesure par densité optique à 234 nm dans les échantillons traités avec les
20 composés mais avec ou sans cuivre (ou AAPH). La mesure de la densité optique à 234 nm est réalisée toutes les 10 minutes pendant 8 heures à l'aide d'un spectrophotomètre thermostaté (Kontron Uvikon 930). Les analyses sont réalisées en triplicata. Nous considérons que les composés ont une activité antioxydante lorsqu'ils induisent un décalage de phase par rapport à l'échantillon témoin. Les
25 inventeurs mettent en évidence que les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, retardent l'oxydation des LDL (induite par le cuivre), ceci indiquant que les composés selon l'invention possèdent un caractère antioxydant intrinsèque. Un exemple de résultats est donné sur les figures 1, 2 et 3 où les propriétés antioxydantes des composés 2 et
30 5 sont illustrées.

(Farinelli, Park et al. 1996), dans du milieu complet RPMI (Invitrogen) complémenté avec 10% de sérum de cheval et 5% de sérum de veau fœtal.

Des cultures (primaires) de cellules endothéliales et muscles lisses sont également utilisées. Les cellules sont commandées chez Promocell (Promocell
5 GmBH, Heidelberg) et sont cultivées selon les indications du fournisseur.

Les cellules sont traitées avec différentes doses de composés de 5 à 300 μ M pendant 24 heures. les cellules sont alors récupérées et l'augmentation de l'expression des gènes cibles est évaluée par PCR quantitative.

10 Mesure des ARNm :

Les ARNm sont extraits des cellules en culture traitées ou non avec les composés selon l'invention. L'extraction est réalisée à l'aide des réactifs du kit Absolutely RNA RT-PCR miniprep Kit (Stratagene, France) selon les indications du fournisseur. Les ARNm sont ensuite dosés par spectrométrie et quantifiés par RT-
15 PCR quantitative à l'aide du kit Light Cycler Fast start DNA Master Sybr Green I kit (Roche) sur un appareil Light Cycler System (Roche, France). Des paires d'amorces spécifiques des gènes de la Super Oxyde Dismutase (SOD), de la Catalase et de la Glutathion Peroxydase (GPx), enzymes anti-oxydantes, sont utilisées comme sondes. Des paires d'amorces spécifiques des gènes β -actine et
20 cyclophiline sont utilisées comme sondes témoin.

L'augmentation de l'expression des ARNm, mesurée par RT-PCR quantitative, des gènes des enzymes antioxydantes est mise en évidence dans les différents types cellulaires utilisés, lorsque les cellules sont traitées avec les composés selon l'invention possédant une fonction acide carboxylique.

25

Contrôle du stress Oxydatif :

Mesure des espèces oxydantes dans les cellules en culture :

Les propriétés antioxydantes des composés sont également évaluées à l'aide d'un indicateur fluorescent dont l'oxydation est suivie par l'apparition d'un signal
30 fluorescent. La diminution d'intensité du signal fluorescent émis est mesurée dans

solution de TBA à 0,375% dans 0,25M HCL contenant 15% d'acide trichloroacétique est également ajouté aux milieux réactionnels. Le mélange est chauffé à 80°C pendant 15 min, refroidit sur glace et la phase organique est extraite avec du butanol. L'analyse de la phase organique se fait par spectrofluorométrie ($\lambda_{exc}=515$ nm et $\lambda_{em}=550$ nm) à l'aide du spectrofluorimètre Shimazu 1501 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japon). Les TBARS sont exprimés en équivalents MDA en utilisant un standard le tetra-ethoxypropane. Les résultats sont normalisés par rapport au contenu en protéines.

La diminution de la peroxydation lipidique observée dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention confirme les résultats obtenus précédemment.

Les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, présentent avantageusement des propriétés antioxydantes intrinsèques qui permettent de ralentir et/ou d'inhiber les effets d'un stress oxydatif. Les inventeurs montrent également que les composés selon l'invention sont capables d'induire l'expression des gènes d'enzymes antioxydants. Ces caractéristiques particulières des composés selon l'invention permettent aux cellules de lutter plus efficacement contre le stress oxydatif et donc d'être protégées vis à vis des dommages induits par les radicaux libres.

Exemple 4 : Evaluation de l'activation des PPARs *in vitro* par les composés selon l'invention

Les composés selon l'invention, possédant une fonction acide carboxylique, testés sont les composés dont la préparation est décrite dans les exemples décrits ci-dessus.

Les récepteurs nucléaires membres de la sous-famille des PPARs qui sont activés par deux classes majeures de composés pharmaceutiques, les fibrates et les glitazones, abondamment utilisées en clinique humaine pour le traitement des dyslipidémies et du diabète, jouent un rôle important dans l'homéostasie lipidique et glucidique. Les données expérimentales suivantes montrent que les composés selon l'invention activent PPAR α *in vitro*.

lysées (Gibco, Paisley, UK) et les activités luciférase sont déterminées à l'aide du kit de dosage Dual-LuciferaseTM Reporter Assay System (Promega, Madison, WI, USA) selon la notice du fournisseur comme décrit précédemment. Le contenu en protéines des extraits cellulaires est ensuite évalué à l'aide du kit de dosage Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad, München, Allemagne) selon la notice du fournisseur.

Les inventeurs mettent en évidence une augmentation de l'activité luciférase dans les cellules traitées avec les composés selon l'invention et transfectées avec le plasmide pGal4-hPPAR α . Cette induction de l'activité luciférase indique que les composés selon l'invention, possédant une fonction acide carboxylique, sont des activateurs de PPAR α . Un exemple de résultat obtenu avec différents composés selon l'invention est présenté sur la figure 4.

Exemple 5 : évaluation des propriétés anti-inflammatoires des composés selon l'invention

La réponse inflammatoire apparaît dans de nombreux désordres neurologiques, comme les scléroses multiples, la maladie d'Alzheimer et de Parkinson, les ischémies cérébrales et les accidents traumatiques du cerveau, de plus l'inflammation est l'un des facteurs importants de la neurodégénérescence. Lors d'accidents cérébraux, une des premières réactions des cellules de la glie est de libérer des cytokines et des radicaux libres. La conséquence de cette libération de cytokines et de radicaux libres est une réponse inflammatoire au niveau cérébral qui peut mener à la mort des neurones (Rothwell 1997).

Les lignées cellulaires et les cellules primaires sont cultivées comme décrit précédemment.

Le LPS, endotoxine bactérienne (*Escherichia coli* 0111 :B4) (Sigma, France) est reconstitué dans de l'eau distillée et conservé à 4°C. les cellules sont traitées avec une concentration de LPS de 1 μ g/ml pendant 24 heures. Pour éviter toutes

ou des rats Wistar ou Sprague Dawley de 200 à 350 g ont été utilisés pour cette expérience.

Les animaux sont maintenus sous un cycle lumière/obscurité de 12 h à une température de 20 +/- 3°C. Les animaux ont un accès libre à l'eau et à la nourriture. La prise de nourriture et la prise de poids sont enregistrées.

Les animaux sont traités par gavage avec les composés selon l'invention (200 mg/kg/jour) ou le véhicule (carboxycellulose 0,5% (CMC)), pendant 14 jours avant l'induction de l'ischémie de l'artère moyenne cérébrale.

1.2 Induction d'une ischémie-reperfusion par occlusion intraluminale de l'artère moyenne cérébrale :

Les animaux ont été anesthésiés à l'aide d'une injection intra-péritonéale de 300 mg/kg d'hydrate de chloral. Une sonde rectale est mise en place et la température du corps est maintenue à 37 +/- 0,5°C. La pression artérielle est mesurée au cours de toute l'expérience.

Sous un microscope chirurgical, la carotide droite est mise à jour à l'aide d'une incision cervicale médiale. L'artère ptérygopalatine a été ligaturée à son origine et une artériotomie est réalisée dans l'artère carotide externe afin d'y glisser un mono-filament de nylon. Ce filament est alors doucement avancé dans l'artère carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

2/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

24 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés sont tués par une overdose de pentobarbital.

Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires ont été mesurées et le volume de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés par la formule

carotide commune puis dans l'artère carotide interne afin d'obturer l'origine de l'artère cérébrale moyenne. Après 1 heure, le filament est retiré pour permettre la reperfusion.

5 2/ traitement des animaux :

Les animaux ayant subi une ischémie-reperfusion préalable sont traités par les composés selon l'invention par voie orale ou systémique une ou plusieurs fois après la reperfusion.

10 3/ Mesure du volume de l'infarctus cérébral :

24, 48 ou 72 heures après la reperfusion, les animaux préalablement traités ou non traités avec les composés sont tués par une overdose de pentobarbital.

15 Les cerveaux sont rapidement congelés et sectionnés. Les sections sont colorées au violet Cresyl. Les zones non colorées des sections cérébrales ont été considérées comme lésées par l'infarctus. Les aires ont été mesurées et le volume de l'infarctus et des deux hémisphères ont été calculés par la formule suivante (Volume de l'infarctus corrigé = Volume de l'infarctus - (volume de l'hémisphère droit - volume de l'hémisphère gauche)) pour compenser l'œdème cérébral.

20 Dans les cas d'un traitement curatif (traitement de la phase aiguë), les animaux traités avec les composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, ont des dommages au niveau cérébral réduit par rapport aux animaux non traités. En effet le volume de l'infarctus est diminué lorsque les composés selon l'invention sont administrés une ou plusieurs fois
25 après l'ischémie-reperfusion.

L'utilisation des composés selon l'invention, possédant une fonction ester ou une fonction acide carboxylique, dans différents modèles expérimentaux montre que ces nouveaux composés possèdent une activité antioxydante intrinsèque, capable
30 de retarder et de réduire les effets d'un stress oxydatif, de plus ils induisent

BIBLIOGRAPHIE

- Adams, H. P., Jr. (2002). "Emergent use of anticoagulation for treatment of patients with ischemic stroke." Stroke **33**(3): 856-61.
- 5 Aebi, H. (1984). "Catalase in vitro." Methods Enzymol **105**: 121-6.
- Bordet, R., D. Deplanque, et al. (2000). "Increase in endogenous brain superoxide dismutase as a potential mechanism of lipopolysaccharide-induced brain ischemic tolerance." J Cereb Blood Flow Metab **20**(8): 1190-6.
- 10 Chabrier, P. E., M. Auguet, et al. (1999). "BN 80933, a dual inhibitor of neuronal nitric oxide synthase and lipid peroxidation: a promising neuroprotective strategy." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(19): 10824-9.
- Chang, R. C., P. Hudson, et al. (2000). "Influence of neurons on lipopolysaccharide-stimulated production of nitric oxide and tumor necrosis factor- α by cultured glia." Brain Res **853**(2): 236-44.
- 15 Clark, R. B. (2002). "The role of PPARs in inflammation and immunity." J Leukoc Biol **71**(3): 388-400.
- Dirnagl, U., C. Iadecola, et al. (1999). "Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view." Trends Neurosci **22**(9): 391-7.
- 20 Ellis, C. N., J. Varani, et al. (2000). "Troglitazone improves psoriasis and normalizes models of proliferative skin disease: ligands for peroxisome proliferator-activated receptor- γ inhibit keratinocyte proliferation." Arch Dermatol **136**(5): 609-16.
- Farinelli, S. E., D. S. Park, et al. (1996). "Nitric oxide delays the death of trophic factor-deprived PC12 cells and sympathetic neurons by a cGMP-mediated mechanism." J Neurosci **16**(7): 2325-34.
- 25 Flohe, L. and F. Otting (1984). "Superoxide dismutase assays." Methods Enzymol **105**: 93-104.
- Fruchart, J. C., B. Staels, et al. (2001). "PPARS, metabolic disease and atherosclerosis." Pharmacol Res **44**(5): 345-52.

Nandagopal, K., T. M. Dawson, et al. (2001). "Critical role for nitric oxide signaling in cardiac and neuronal ischemic preconditioning and tolerance." J Pharmacol Exp Ther **297**(2): 474-8.

5 Paglia, D. E. and W. N. Valentine (1967). "Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase." J Lab Clin Med **70**(1): 158-69.

Raspe, E., L. Madsen, et al. (1999). "Modulation of rat liver apolipoprotein gene expression and serum lipid levels by tetradecylthioacetic acid (TTA) via PPARalpha activation." J Lipid Res **40**(11): 2099-110.

10 Rothwell, N. J. (1997). "Cytokines and acute neurodegeneration." Mol Psychiatry **2**(2): 120-1.

Smith, K. J., E. Dipreta, et al. (2001). "Peroxisomes in dermatology. Part II." J Cutan Med Surg **5**(4): 315-22.

15 Spooner, R. J., A. Delides, et al. (1981). "Heat stability and kinetic properties of human serum glutathione reductase activity in various disease states." Biochem Med **26**(2): 239-48.

X6 est un atome d'oxygène ou un atome d'azote, dans le cas où X6 est un atome d'azote, il porte un atome d'hydrogène ou un groupement hydroxy ou un groupement alkyloxy.

5 R1, R3, R4, R5, identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un groupement alkyle substitué ou non par un groupement faisant partie du groupe 1 ou du groupe 2 définis ci-dessous,

10 G1, G3, G4, G5, identiques ou différents, représentent un atome d'oxygène ou de soufre,

avec au moins un des groupements X1, X3, X4 ou X5 répondant à la formule -G-R, et

15 avec au moins un des groupements R1, R3, R4 ou R5 présent sous la forme d'un radical alkyle portant au moins un substituant du groupe 1 ou 2, ledit radical alkyle étant lié directement au cycle ou étant associé à un groupement G selon la formule -GR,

20 les substituants du groupe 1 sont choisis parmi les groupements carboxy de formule : $-\text{COOR}_6$ et les groupements carbamoyle de formule : $-\text{CONR}_6\text{R}_7$,

les substituants du groupe 2 sont choisis parmi l'acide sulfonique ($-\text{SO}_3\text{H}$) et les groupements sulfonamide de formule : $-\text{SO}_2\text{NR}_6\text{R}_7$

25 avec R_6 et R_7 , identiques ou différents, représentant un atome d'hydrogène ou un radical alkyle éventuellement substitué par au moins un groupe de type 1 ou 2,

30 leurs isomères optiques et géométriques, leurs racémates, leurs tautomères, leurs sels, leurs hydrates et leurs mélanges,

à l'exclusion des composés de formule (I) dans laquelle

7- Dérivés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que X1 est un groupement -G1-R1 et en ce que R1 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G1 et le substituant du groupe 1 tels que définis à la revendication 1.

8- Dérivés selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisés en ce que X4 est un groupement -G4-R4 et en ce que R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, avec G4 et le substituant du groupe 1 tels que définis à la revendication 1.

9- Dérivés selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisés en ce que X4 est un groupement -G4-R4, R4 est tel que défini à la revendication 1 et X3 ou X5 représente respectivement R3 ou G3R3, d'une part, et R5 ou G5R5, d'autre part, avec R3 ou R5 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

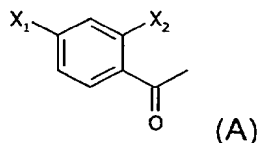
10- Dérivés selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisés en ce que X1 est un groupement -G1-R1 dans lequel G1 est un atome d'oxygène et R1 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

11- Dérivés selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisés en ce que X4 est un groupement -G4-R4 dans lequel G4 est un atome d'oxygène et R4 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

12- Dérivés selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisés en ce que X4 est un groupement -G4-R4 dans lequel G4 est un atome d'oxygène, R4 est tel que défini à la revendication 1 et X3 ou X5 représente respectivement R3 ou G3R3, d'une part, et R5 ou G5R5, d'autre part, avec R3 ou R5 est un groupement alkyle portant un substituant du groupe 1, ledit substituant du groupe 1 étant tel que défini à la revendication 1.

hydroxy-4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthoxy-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,4-dihydroxy-5-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-2-prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,4-dihydroxy-5-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]-2-propen-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-hydroxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthyl-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxy-4-chlorophényl]-3-[3,5-diméthyl-4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one, le -[2-hydroxyphényl]-3-[3,5-diméthyl-4-*isopropoxy*carbonyl diméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[3-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl] prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthylthiophényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-hydroxyphényl]-3-[4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthylthiophényl]prop-2-èn-1-one, le 1-[2-mercapto-4-méthoxyphényl]-3-[4-carboxydiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one et le 1-[2-mercapto-4-méthoxyphényl]-3-[4-*isopropoxy*carbonyldiméthylméthyloxyphényl]prop-2-èn-1-one.

14- Procédé de préparation de composés de formule (I), caractérisé en ce qu'il comprend une mise en contact en milieu basique ou en milieu acide d'au moins un composé de formule (A) avec au moins un composé de formule (B), les formules (A) et (B) étant :



- X_2 , X_3 et X_5 représentent simultanément un atome d'hydrogène, X_1 représente un atome d'halogène ou un radical R_1 ou $-G_1R_1$, où R_1 représente un radical alkyle non substitué de C1-C2 et G_1 représente un atome d'oxygène, X_6 représente un atome d'oxygène et X_4 représente un groupement de formule $-O-$
- 5 $CR_{11}R_{12}-COOR_{10}$, avec R_{11} et R_{12} , identiques ou différents, représentent un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C2, et R_{10} représente un atome d'hydrogène ou un radical alkyle de C1-C7.

2/4

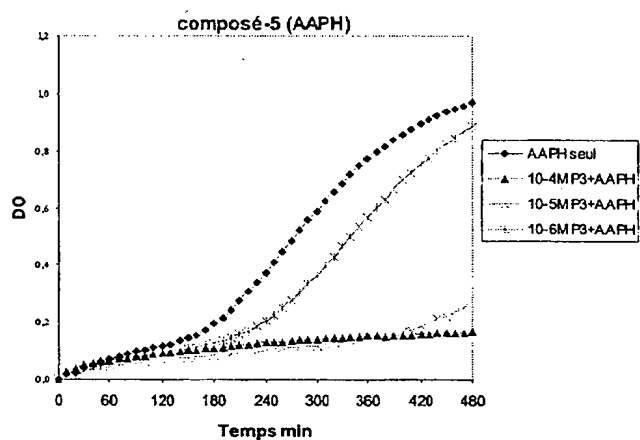


Figure 2-a

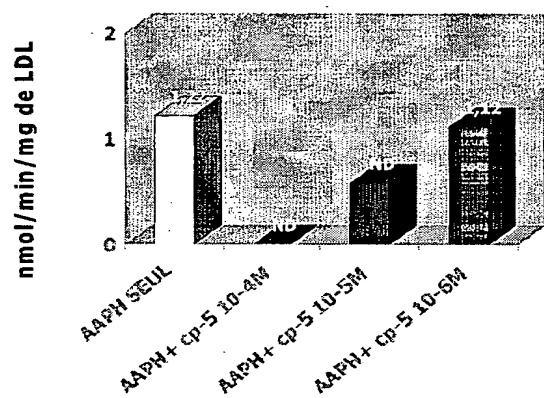


Figure 2-b

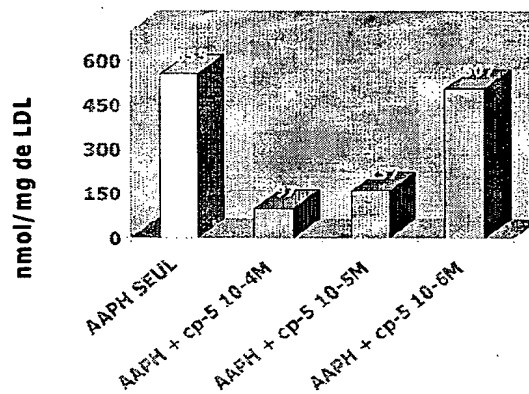
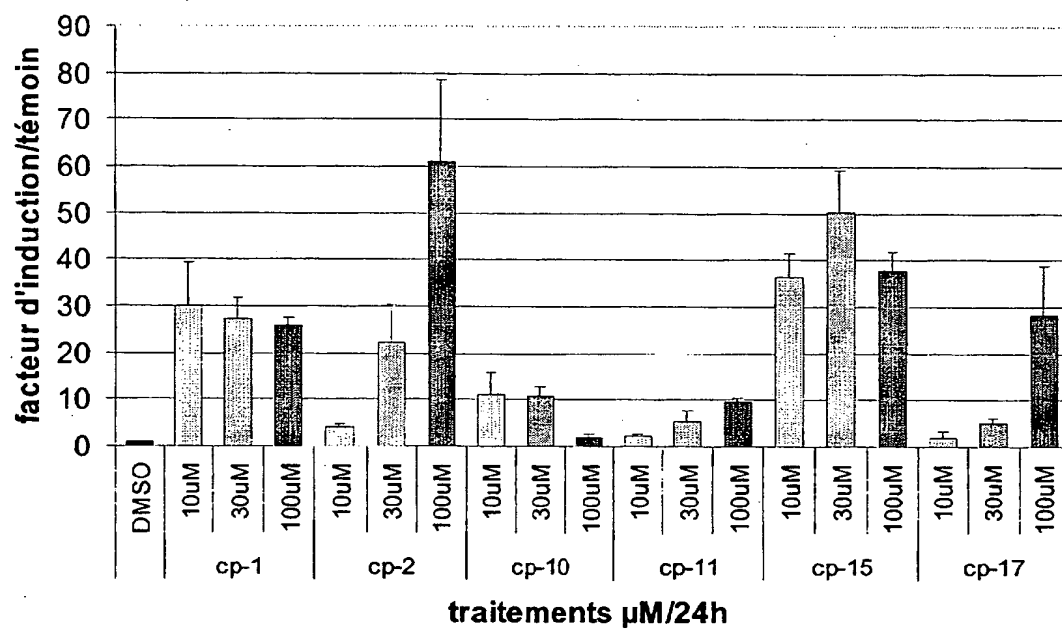


Figure 2-c

Figure 2

4/4

**Figure 4**



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 620981
FR 0208571

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	LEBEAU J ET AL: "ANTIOXIDANT PROPERTIES OF DI-TERT-BUTYLHYDROXYLATED FLAVONOIDS" FREE RADICAL BIOLOGY AND MEDICINE, ELSEVIER SCIENCE, XX, vol. 29, no. 9, 1 novembre 2000 (2000-11-01), pages 900-912, XP001149406 ISSN: 0891-5849 * le document en entier *	1, 2, 4-6, 13	
A	MUKHERJEE S ET AL: "SYNTHETIC AND BIOLOGICAL ACTIVITY EVALUATION STUDIES ON NOVEL 1,3-DIARYLPROPENONES" BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY, ELSEVIER SCIENCE LTD, GB, vol. 9, no. 2, 2001, pages 337-345, XP001149402 ISSN: 0968-0896 * le document en entier *	1-6, 13, 14	
A	CHENG Z-J ET AL: "BROUSSOCHALCONE A, A POTENT ANTIOXIDANT AND EFFECTIVE SUPPRESSOR OF INDUCIBLE NITRIC OXIDE SYNTHASE IN LIPOPOLYSACCHARIDE-ACTIVATED MACROPHAGES" BIOCHEMICAL PHARMACOLOGY, PERGAMON, OXFORD, GB, vol. 61, no. 8, 15 avril 2001 (2001-04-15), pages 939-946, XP001149401 ISSN: 0006-2952 * le document en entier *	1, 2, 4-6, 15-19	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
-/--			
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
25 mars 2003		Gac, G	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE PARTIEL

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

voir FEUILLE(S) SUPPLÉMENTAIRE(S)

N° d'enregistrement
national

FA 620981
FR 0208571

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendications concernées	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
A	HALLIWELL B: "Oxidants and the central nervous system: some fundamental questions. Is oxidant damage relevant to Parkinson's disease, Alzheimer's disease, traumatic injury or stroke?" ACTA NEUROLOGICA SCANDINAVICA. SUPPLEMENTUM. DENMARK 1989, vol. 126, 1989, pages 23-33, XP008015255 ISSN: 0065-1427 * le document en entier *	19	
A	DATABASE CAPLUS 'en ligne! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; retrieved from STN, accession no. 1998:679920 Database accession no. 130:105262 XP002236011 * abrégé * & ZHANG ET AL.: "Antioxidation of Puerperia lobata isoflavones" TONGJI YIKE DAXUE XUEBAO, vol. 26, no. 5, 1997, pages 340-342, china	15-19	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (Int.CL.7)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
25 mars 2003		Gac, G	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

2

EPO FORM 1503 12.99 (P04C35)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET FRANÇAIS NO. FR 0208571 FA 620981**

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche préliminaire visé ci-dessus.

Les dits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du **25-03-2003**

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets, ni de l'Administration française

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication		Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 4656305	A	07-04-1987	DE	3537207 A1	30-04-1986
			FR	2572070 A1	25-04-1986
			GB	2165841 A , B	23-04-1986
			IT	1185828 B	18-11-1987
			JP	61100547 A	19-05-1986
			US	RE33109 E	07-11-1989
FR 2383157	A	06-10-1978	GB	1566497 A	30-04-1980
			AU	520288 B2	21-01-1982
			BE	864692 A1	03-07-1978
			DE	2810253 A1	21-09-1978
			ES	467961 A1	01-09-1979
			FR	2383157 A1	06-10-1978
			IT	1113112 B	20-01-1986
			JP	1001456 B	11-01-1989
			JP	1630820 C	26-12-1991
			JP	53116356 A	11-10-1978
			US	4190671 A	26-02-1980
			ZA	7800952 A	31-01-1979
			AU	3455278 A	04-10-1979
FR 2248829	A	23-05-1975	JP	1236067 C	17-10-1984
			JP	50101342 A	11-08-1975
			JP	59008249 B	23-02-1984
			JP	1239606 C	13-11-1984
			JP	50101343 A	11-08-1975
			JP	59012094 B	21-03-1984
			JP	1236068 C	17-10-1984
			JP	50108245 A	26-08-1975
			JP	59008250 B	23-02-1984
			JP	1239604 C	13-11-1984
			JP	50070346 A	11-06-1975
			JP	59011572 B	16-03-1984
			AR	203756 A1	15-10-1975
			AR	203153 A1	14-08-1975
			AR	205129 A1	05-04-1976
			AU	7019674 A	18-12-1975
			CA	1044251 A1	12-12-1978
			CH	597132 A5	31-03-1978
			CH	596128 A5	28-02-1978
			CH	593224 A5	30-11-1977
			DE	2430251 A1	15-05-1975
			DK	337474 A	23-06-1975
			ES	427602 A1	16-10-1976
			ES	442948 A1	01-04-1977
			ES	442949 A1	01-07-1977

EPO FORM P0465

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ ~~FADED~~ TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.